

Aus dem Hygienischen Institut der Universität Breslau
(Direktor: Prof. Dr. Carl Prausnitz)

Versuche zur Frage der Resistenz der
Diphtherie- und Typhusbazillen
gegen Austrocknen.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der
Zahnheilkunde

der Hohen medizinischen Fakultät der
Schlesischen Friedrich Wilhelms-Universität

zu Breslau

vorgelegt von

Ernst Isenberg

Breslau 1930

Gedruckt mit Genehmigung der Hohen medizinischen Fakultät
der Schlesischen Friedrich Wilhelms-Universität zu Breslau.

Berichterstatter: Prof. Dr. Prausnitz.



Meinem lieben Vater
in Dankbarkeit gewidmet.

Viele Mikroorganismen zeigen gegen ungünstige Lebensbedingungen außerordentlich große Resistenz. Das gilt nicht allein für die Sporenbildner, sondern auch andere Keime — darunter die Diphtherie- und Typhusbazillen — besitzen eine große Widerstandsfähigkeit gegen mannigfache ungünstige Lebensbedingungen. So ist z. B. die große Resistenz mancher Keime gegen abnorm hohe Kältegrade bekannt. Auch Austrocknung wird wochen- und monatelang ertragen. Zu den Keimen, die bei Austrocknung mehr oder weniger lange ihre Lebensfähigkeit bewahren können, gehören auch die Diphtherie- und Typhusbazillen. Von beiden Krankheiten ist bekannt, daß sie nicht nur von Mensch zu Mensch, sondern auch durch leblose Gegenstände, die mit Exkreten von Kranken beschmutzt sind, vermittelt werden. Es darf daher nicht wunder nehmen, wenn schon in der Frühära der Bakteriologie das Problem untersucht worden ist, wie sich die Erreger dieser Krankheiten bei Austrocknung verhalten. Denn die Beantwortung dieser Frage ist — abgesehen vom theoretischen Interesse — auch von großer praktischer Bedeutung.

1. Diphtheriebazillen.

Wenn wir die älteren, diese Frage behandelnden Arbeiten überblicken, so finden wir so große Differenzen in den Forschungsergebnissen, daß es gerechtfertigt erscheint, zunächst die Tabellen von Ficker, welche die mitgeteilten Ergebnisse bis zum Jahre 1898 umfassen, anzuführen.

Ergebnisse über die Lebensdauer der Diphtheriebazillen. (Nach Ficker.)

Autor	Jahr der Veröffentlichung	Kulturboden	Haltbarkeit in Tagen	Objekt d. Fixation	Ort der Aufbewahrung
Löffler	1890	—	28	Seidenfäd.	b. gew. Luft
„	1890	—	35—98	„	i. Exsikkator
„	1890	Membran	63—112	—	„ „ b. Tagesl.
„	1890	Serum	121	„	„ „ i. Dunkeln
„	1890	„	189	„	„ „ b. gew. Luft
Klein	1890	Membran	120	—	„
d'Epine et de Marignac	1890	—	90—105	„	„

Autor	Jahr d. Ver- öffent- lichung	Kultur- Boden	Haltbar- keit in Tagen	Objekt d. Fixation	Ort der Auf- bewahrung
Roux u. Yersin	1890	Membran	150	—	i. Leinw. eingew.
Park	1892	Membran	120	—	b. gew. Luft
Abel	1893	—	61	Seidenfäd.	i. Freien, i. Winter
"	1895	—	74	"	b. gew. Zimmerl.
Escherich	1894	Membran	30	—	"
Pernice	1895	"	53	—	"
Reyes	1895	—	1 $\frac{1}{2}$		üb. Schwefels.
"	1895	—	12	Leinwand	b. gew. Luft
"	1895	—	5	Seide	"
"	1895	—	4	Papier	"
"	1895	—	14	Sand	"
"	1895	—	100	Mörtel	"
Golowkow	1895	—	20	Leinw. u. Tuch	a. belicht. Stelle
"	1895	—	1	Satin ungew.	"
"	1895	—	20	Satin gew.	"
Germano	1897	Bouillon	40	Feinsand	
"	1897	"	35	Humus	
"	1897	"	30	Tuffbod.	
"	1897	"	50	Löß	
"	1897	"	10	Ziegelmehl	üb. Schwefels.
"	1897	"	50	Feinsand	"
"	1897	"	40	Humus, Tuff	"
"	1897	"	60	Löß	"
"	1897	"	20	Ziegelmehl	"

In dieser Zusammenstellung ist die kürzeste Lebensdauer ein Tag und die längste 189 Tage. Diese Unterschiede sind wohl wesentlich durch die Verschiedenheit der Versuchsbedingungen zu erklären. Es wurden die verschiedensten Materialien beschickt, die unter ganz variablen Bedingungen aufbewahrt wurden (und zwar im Dunkeln, geschützt vor der schädigenden Einwirkung des Lichts oder im Exsikkator über Schwefelsäure usw.). Sehr wichtig für die Erklärung der gefundenen Zeitunterschiede ist ferner der Umstand, daß auch bei den einzelnen Stämmen recht verschiedene Resistenz beobachtet wird, so daß unter Lebensbedingungen, bei denen ein Stamm lebensfähig ist, ein anderer zugrunde geht. Wenn wir diesen von Ficker gesammelten Resultaten solche jüngeren Datums gegenüberstellen, so finden wir auch hier große Differenzen.

Von besonderem praktischem Interesse sind die Ermittlungen Weichhardts über die Verbreitung von Diphtherie durch leblose Gegenstände, weil diese Resultate nicht unter künstlichen Versuchsbedingungen gewonnen sind, sondern durch Untersuchung verschiedener Gegenstände aus

der Umgebung der Patienten. In einer Reihe von 300 Untersuchungen strich er mit angefeuchteten Tupfern über verschiedene Gegenstände von 22 Krankenzimmern, wie Bettleisten, Wände, Wäschestücke usw., wo man vermuten durfte, daß Diphtheriebazillen angetrocknet sein könnten. Nur dreimal wurden mit Sicherheit Diphtheriebazillen festgestellt, und zwar an dem Glasteil einer Saugflasche, an dem Halstuch eines stark hustenden Kindes und auf einem Teppich, der ungefähr einen halben Meter vom Munde des kranken Kindes entfernt war. Häufig fand er auch diphtherieähnliche Stäbchen, die aber nicht mit Sicherheit als Diphtheriebazillen identifiziert werden konnten.

Heim (1905) fand im Exsikkator aufbewahrte, an Seidenfäden angetrocknete Diphtheriebazillen nach 3 Jahren 11 Monaten lebensfähig.

Thurn (1914) untersuchte die Lebensdauer an Objektträgern angetrockneter Bakterien und fand die Diphtheriebazillen nach 24 Stunden noch lebensfähig, nach 5 Tagen schon abgetötet. Die am Objektträger lufttrocken haftenden Keime vertragen in diesem Zustande sogar erhebliche Wärmegrade: Nach Thurn und anderen werden sie bei der üblichen Fixierung durch dreimaliges „durch die Flamme ziehen“ nicht sicher abgetötet.

Auf sterilisiertes Papiergeld angetrocknet halten sich nach Dold und Chen Yü Hsiang (1920) vom Patienten frisch gewonnene Kulturen 4—5 Tage am Leben. Alte Sammlungsstämme dagegen waren nach den Untersuchungen derselben Autoren nur 19—24 Stunden lebensfähig.

Jochimsen (1929) betont entgegen der herrschenden Ansicht, daß die Diphtheriebazillen nicht nur durch Tröpfchen verbreitet würden, sondern daß sie auch lebensfähig in feinsten Staub übergehen und mit diesem selbst über weite Strecken hin durch minimale Luftströme fortgeführt werden können. Im allgemeinen gilt, wie für viele andere Bakterien auch für die Diphtheriebazillen die Annahme, daß sie im natürlichen Substrat (Membran, Schleim usw.) länger leben als bei künstlichen Versuchsbedingungen.

In den Versuchen von Lomry (1929) wurde Diphtheriebouillonaufschwemmung an Plättchen von Eisen, Kupfer und Blei angetrocknet; ferner an Holzstückchen und Gewebeproben (Rohleinen, Leinen und Baumwolle). Die infizierten Objekte wurden bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Als Mittelwert für die Lebensdauer der angetrockneten Diphtheriebazillen fanden sich hier nur 15—25 Tage. Einige Stämme starben

schon nach 10 Tagen ab, andere erreichten eine Lebensdauer von 30 Tagen. Wenn man in Betracht zieht, daß die Austrocknung der Bouillonaufschwemmung erst nach 5 Tagen vollendet war, müssen die gefundenen Werte auf 10 bis 20 Tage reduziert werden. Diese relativ geringen Werte für die Lebensdauer der Diphtheriebazillen bei den L o m r y schen Versuchen wären vielleicht so zu erklären, daß beim langsamen Eintrocknen der Bouillon eine Schädigung der Bakterien durch Hypertonie erfolgt wäre.

2. Typhusbazillen.

Über die ältere Literatur (bis 1898) bezüglich der Resistenz der Typhusbazillen gegenüber dem Austrocknen findet sich in der F i c k e r schen Arbeit eine tabellarische Zusammenstellung. Ich gebe sie nachstehend wieder:

Ergebnisse über die Lebensdauer der Typhusbazillen.

(Nach F i c k e r.)

Autor	Jahr d. Veröffentlichung	Kultur-Boden	Haltbarkeit in Tagen	Objekt der Fixation	Ort der Aufbewahrung
Gaffky	1884	Serum	90	Deckgläsch.	im Zimmer
Seitz	1886		28	Seidenfäd.	" "
Sirena u. Alessi	1892	Agar	41	"	üb. Schwefelsäure
"	1892	"	1	"	üb. Chlorcalcium
"	1892	"	18	"	i. Brutschr. 37°
"	1892	"	64	"	a. schatt. Stelle
Billings u. Peekham	1895		229	"	im Dunkeln
"	1895		213	"	im Exsikkator
Uffelmann	1894	Bouill. u. Fäces	21	Gartenerde	im Zimmer
"	1894		82	weißer Sand	"
			32	Haus- und Straßenkehr.	"
			60—80	Leinw., Bucksk.	"
Dempster	1894		9	weißer Sand	"
"	1894		14	schwarz. Erde	"
"	1894		18	gelb. Sand	"
Kruse u. Pfaffenholz	1896		5—15		
Germano	1897	Bouill. od. Agar	1	Feinsand, Tuffboden	"
"	1897	"	3	Ziegelstaub	"
"	1897	"	5	Humus	"
"	1897	"	3	Löß	"
"	1897	Fäces	25	Zimmerstaub, Feins., Humus	"
"	1897	"	50	Leinw.	"
"	1897	"	90	Wolle	"

Auch die Forschungsergebnisse der Folgezeit zeigen für die Lebensdauer der Typhusbazillen in trockenem Zustande große Differenzen.

Robertson (1898) infizierte in einem Felde die Erde mit Typhusbazillen. Nach 3—4½ Monaten waren die Keime hier mit Leichtigkeit nachweisbar, 1 Monat später nicht mehr. In einem anderen Versuche erwiesen sie sich noch nach 11 Monaten lebensfähig.

Martin (1898) infizierte sterilisierte Erdproben verschiedener Art mit Typhusbazillen. In einem Versuch gelang es ihm, sie noch nach 456 Tagen wieder zu finden. Die Untersuchung des Wassergehaltes der Erdprobe ergab vom 33. Tage des Versuches ab Werte unter 14,7%; am Ende der Versuchsreihe sah die Erdprobe wie trockener Staub aus. In unsterilisierten Erdproben hielten sich die Typhusbazillen jedoch nur 50 Tage.

Rullmann (1901) beschickte teils sterilisierte, teils unsterilisierte Erdproben mit Typhusbazillen und bewahrte sie im Zimmer bei diffusum Tageslicht auf. In einer Bodenprobe konnte er nach 9 Monaten, in einer andern nach 16 Monaten lebensfähige Typhusbazillen nachweisen. In sterilisiertem Flußsand hielten sich die Typhusbazillen fast ein Jahr. In unsterilisierten Erdproben (Humus, Feinkies) dagegen kürzere Zeit. Dagegen waren sie in unsterilisiertem, roten Flußsand noch nach 100 Tagen am Leben.

Pfuhl (1902) schwemmte eine Typhusagarkultur mit 3 Tropfen Wasser auf und verrieb die Aufschwemmung mit einem erbsengroßen Stück breiigen Kotes; zu diesem Gemisch setzte er so lange feinen, trockenen Sand zu, bis die ganze Sache ziemlich trocken erschien. Nach 24 stündiger Aufbewahrung bei Zimmertemperatur war sie so trocken, daß sie mit einem Glasstab pulverisiert werden konnte. Hierin blieben die Typhusbazillen bis zu 28 Tagen lebensfähig. An Leinwand angetrocknet hielten sich Typhusbazillen 97 Tage lang.

Levy und Kayser (1903) verfolgten das Schicksal von Typhusbazillen, die mit dem undesinfizierten Kot eines Patienten in eine Senkgrube kamen. Die Grube wurde nach 5 Wintermonaten geleert und ihr Inhalt zu Dungzwecken auf einen lehmigen Acker gebracht, wo er 2 Monate lang liegen blieb. Nach diesem Zeitraum waren die Typhusbazillen noch lebensfähig.

Heim (1905) fand Typhusbazillen, die an einem Seidenfaden angetrocknet im Exsikkator aufbewahrt wurden, noch nach 3¼ Jahren lebensfähig, während ein Stamm in einem

zugeschmolzenen Schrägagarröhrchen nach 3 Jahren noch am Leben war. Ebenso konnte Martini (1910) beobachten, daß Typhusbazillen in zugeschmolzenem Schrägagarröhrchen unter mannigfachen Temperaturverhältnissen bis nahezu 3 Jahren lebensfähig blieben.

Sachs-Mücke (1908) beobachtete in einer Herberge von Wanderarbeitern, daß diese Bierflaschen als Nachgeschirr verwendeten. Auf Grund dieser Beobachtung angestellte Versuche ergaben, daß Typhusbazillen in Bier 2 bis 5 Tage, auf den zum Verschuß der Flaschen dienenden Gummiringen 10 Tage lebensfähig blieben.

Galvagno und Calderini (1908) beschickten eine Senkgrube und eine Klosett-Tonne mit typhusbazillenhaltigem Kot. Lebende Typhusbazillen waren in der Senkgrube nach 15—30, in der Tonne nach 15—25 Tagen nachweisbar. Wurde der Tonnen- bzw. Grubenhalt nach 10 Tagen auf Erde gebracht, so blieben hier die Typhusbazillen in den oberen Schichten noch weitere 20, in tieferen Schichten sogar bis zu 40 Tagen lebend. Wahrscheinlich hat hierbei die Feuchtigkeit der tieferen Bodenschichten eine Rolle gespielt.

Zu den geschilderten Resultaten stehen in gewissem Widerspruch die Versuche von Semple und Greig (1908). Sie arbeiteten allerdings in Kasauli (Zentralindien) im Hochsommer bei Zimmertemperaturen von etwa 27—30° C. Typhushaltiger Urin oder Kot — natürlich oder künstlich infiziert — wurde im Zimmer vor direkter Sonnenbestrahlung geschützt aufbewahrt. In Urin, der 60 Millionen Typhuskeime im Kubikzentimeter enthielt, konnten nach 72 Stunden keine lebensfähigen Typhusbazillen mehr festgestellt werden. Kot eines typhuskranken Eingeborenen, der die Typhusbazillen praktisch in Reinkultur enthielt, wurde bei Zimmertemperatur von 27—30° C. vor direkter Sonnenbestrahlung geschützt aufbewahrt. Die Typhusbazillen waren nach 96 Stunden tot. Dünnes Baumwollgewebe und dickes, braunes Deckentuch wurden mit infiziertem Urin getränkt und der Sonnenbestrahlung ausgesetzt. In Baumwollgewebe waren die Typhusbazillen nach 2 Stunden, im Deckentuch nach 6 Stunden abgetötet. Aus diesen Ergebnissen wird der Schluß gezogen, daß die Lebensbedingungen außerhalb des menschlichen Körpers in Indien für die Lebensfähigkeit der Typhusbazillen ungünstig sind.

Morgan und Harvey (1909) ließen in Fortsetzung dieser Untersuchungen einen Typhusbazillenträger auf einen

bestimmten Bodenfleck im Freien urinieren. Nach 6 Stunden gelang es noch, Typhusbazillen aus dem Boden herauszuzüchten, nach 30 Stunden nicht mehr, obgleich der Boden nach dieser Zeit vom Urin noch feucht war. Der gleiche Versuch wurde mit der Modifikation gemacht, daß die Entleerung des Urins in der Ecke einer dunklen Eingeborenenhütte erfolgte. Hier konnten die Typhusbazillen noch nach 24 Stunden aus dem Boden herausgezüchtet werden. Andere Ergebnisse wurden erzielt, wenn Handtuchstoff mit typhusbazillenhaltigem Urin getränkt und der Trocknung ausgesetzt wurde. In diesem Falle waren die Typhusbazillen noch nach 10 und mehr Tagen lebensfähig. Als Grund für diese längere Haltbarkeit wird angenommen, daß in diesem Falle die Konkurrenz der Colibazillen und der Erdkeime ausfiel. Ferner wurde Stuhl eines Typhusbazillenträgers auf trockene Erde gebracht und leicht mit trockenem Boden bedeckt. Die Typhusbazillen konnten in den ersten 2—3 Tagen überall in großer Menge herausgezüchtet werden. Am Rande der Masse gelang dies bis zu 5 Tagen, in der Mitte bis zu 14 Tagen.

Dold und Chen Yü Hsiang (1920) infizierten mit einer winzigen Platinöse von einer 18 stündigen Typhusbouillonkultur Stückchen von sterilisiertem Banknotenpapier und bewahrten sie im Halbdunkel bei Zimmertemperatur auf. Die Lebensdauer betrug 12—36 Stunden. Dagegen hielt sich frischer Typhusstuhl, der mit Bouillon verdünnt auf 1 qcm große, sterilisierte Papierstückchen gebracht wurde, 3 bis 5 Tage. Aus diesen Ergebnissen kann man sehen, daß Typhusbazillen, die sich in ihrem natürlichen Substrat befinden — trotz der Konkurrenz anderer Keime —, größere Lebensfähigkeit und Widerstandskraft gegenüber dem Austrocknen haben können, als „nackte“ Bakterien.

Lomry (1929), dessen Versuche über Diphtheriebazillen oben erwähnt wurden, hat unter ähnlichen Bedingungen die Lebensdauer von Typhusbazillen geprüft. Seine Versuche wurden bei jeder Jahreszeit gemacht, er beschickte Metallproben (Eisen, Kupfer, Blei), Holzstückchen von verschiedenen Holzarten und Gewebsproben mit Bouillonaufschwemmungen von Typhusreinkultur und bewahrte die infizierten Objekte bei Zimmertemperatur auf. An Metallplättchen angetrocknet lebten die Typhusbazillen 20 bis 30 Tage, auf Holz 80 und auf Geweben 100—150 Tage. Der Autor erklärt die auffallend hohe Lebensdauer der auf poröse Gewebe gebrachten Typhusbazillen damit, daß diese mit viel größeren Mengen von infektiösem Material beschickt wurden,

wodurch naturgemäß auch die Antrocknungszeit eine bedeutend längere war, als auf den Metallstückchen. Bemerkenswert ist die Beobachtung, daß die Typhusbazillen auf Bleifolien, wie sie zum Verpacken von Schokolade, Dragées usw. dienen, länger lebten als auf anderen Metallen.

Zum Schluß sei noch ein Bericht Lomrys (1929) referiert, in dem er die Resultate der letztgenannten Arbeit mit denen der — ebenfalls an anderer Stelle dieser Ausführungen — erwähnten Arbeit über die Lebensdauer der Diphtheriebazillen vergleicht. Im Gegensatz zur allgemeinen Meinung gibt Lomry an, daß die Typhusbazillen eine größere Resistenz besitzen sollen, als die Diphtheriebazillen. Da die Versuchsbedingungen jedesmal andere waren, gibt L. selbst zu, daß die gefundenen Mittelwerte nicht als streng exakte Resultate zu werten sind, sondern nur unter dem Gesichtspunkte vergleichender Betrachtung.

Entsprechend den recht verschiedenen Befunden über die Widerstandskraft der hier besprochenen Krankheitserreger gegen Austrocknen, gehen auch die Ansichten der Forscher über die Frage nach der Gefährlichkeit staubtrockener Ausscheidungen von Diphtherie- und Typhuskranken auseinander. Manche Autoren sprechen dieser Möglichkeit keine große Bedeutung zu (Weichardt, Semple und Greig); andere dagegen sind der Meinung, daß infolge der langen Lebensdauer der angetrockneten Keime diese Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen ist.

Mit Rücksicht auf die praktische Bedeutung der Lebensdauer eingetrockneter Diphtherie- und Typhusbazillen habe ich diese Frage auf Anregung von Herrn Professor Carl Prausnitz an einigen frisch aus dem Kranken gezüchteten Stämmen erneut untersucht.

3. Eigene Versuche.

Im Hinblick auf die praktische Bedeutung des Problems mußte bei den Untersuchungen Rücksicht auf möglichst weitgehende Anpassung an die Verhältnisse des Alltags genommen werden; andererseits mußten auch gewisse, die Bakterien schädigende Einflüsse — wie Konkurrenz anderer Keime, direkte Sonnenbestrahlung u. ä. — vermieden werden. Es war vorauszusehen, daß die chemische Beschaffenheit und physikalische Struktur der Substrate die Widerstandsfähigkeit der angetrockneten Keime beeinflussen könnte: Als solche kommen z. B. in Betracht oligodynamische — die Bakterien

schädigende — Wirkung gewisser Metalle, günstiger konservierender Einfluß gewisser poröser Stoffe.

Als Objekte dienten:

1. Metalle, und zwar a) Eisen, b) Kupfer, c) Messing, d) Zink, e) Zinn.

Diese Metalle gelangten in der Form von dünnen Plättchen von den Ausmaßen $20 \times 4 \times 0,5$ mm in Anwendung.

2. Holzstückchen, und zwar halbierte Zahnstocher von den Ausmaßen $25 \times 5 \times 0,8$ mm.
3. Stoffgewebe, und zwar a) Wolle, b) Baumwolle, c) Leinen.

Diese Proben wurden in der Form von etwa 1 qcm großen, ungefärbten Fleckchen verwendet.

4. Sand.

Im Interesse der leichten Herauszüchtung der Keime wurden die zu infizierenden Objekte zuvor durch dreistündiges Erhitzen auf $150-160^{\circ}$ im Trockenschrank sterilisiert. Auch alle anderen Maßnahmen wurden aseptisch ausgeführt.

Zur Beimpfung der Objekte dienten zwei verschiedene Typhuskulturen und eine Diphtheriekultur, die kurze Zeit vorher aus dem Kranken gezüchtet waren. Die Typhusbazillen wurden aus 24 stündigen Endoagarkulturen, die Diphtheriebazillen einer 24 stündigen Löfflerschen Serumkultur entnommen.

Der Rasen wurde

1. unmittelbar mit steriler Platinöse auf die Objekte in dünner Schicht verstrichen;
2. in steriler Milch zu einer dicken Paste verrieben (20 Normalösen auf 1 ccm) und in gleicher Weise aufgetragen;
3. in einem Gemisch von frisch entnommenem Mundspeichel von 4 gesunden Erwachsenen in gleicher Weise zu einer Paste verrieben und auf die Objekte aufgetragen.

Einerseits sollte nämlich die Resistenz der „nackten“ Bakterien gegen die Austrocknung geprüft werden entsprechend den Bedingungen, wie sie im bakteriologischen Laboratorium beim Verspritzen usw. von Kulturmateriel vorkommen können. Hierbei stellt naturgemäß das Eintrocknen von Bakterienaufschwemmungen in Bouillon oder physiologischer Kochsalzlösung die Gefahr einer Schädigung der Keime durch die während des Eintrocknens erfolgende

Hypertonie dar. — Daneben aber sollte die Widerstandsfähigkeit der Bakterien in organischen Schutz- und Einhüllungsmaterialien geprüft werden.

Da ein natürlich infiziertes Material (z. B. Diphtheriemembran, typhusbazillenreicher Kot) nicht verfügbar war, diente die Aufschwemmung in Milch bzw. Speichel als Modellversuch. Dadurch, daß die Beschickung von vornherein mit einer dicken Paste erfolgte, war sowohl Bazillenreichtum, als auch Raschheit der Eintrocknung gewährleistet. Die Trocknung erfolgte, da nur ganz dünne Schichten aufgetragen wurden, sehr rasch. Die beschickten Metallplättchen waren schon nach 5, das Holz nach 3 und die Gewebe nach 8 Minuten lufttrocken. Die Imbibierung des Sandes erfolgte so, daß einige Tropfen einer Milchaufschwemmung (10 Normalösen auf 2 ccm) auf eine dünne Schicht von sterilem Sand mit einer sterilen Pipette getropft wurden. Zu diesem feuchten Sand wurde noch trockener Sand gemischt, bis die Feuchtigkeit ganz minimal war. Nach 3 stündigem Aufenthalt im Brutraum bei 37° war der Sand lufttrocken.

Die infizierten Materialien lagen in einfacher Lage, der Sand in dünner Schicht in sterilen Petrischalen. Der Metalldeckel lag nur lose über dem unteren Teil der Schale, um freien Luftaustausch mit der Zimmerluft zu gestatten, aber nach Möglichkeit das Hereinfallen von Staub zu beschränken. Die Schalen blieben während des ganzen Versuches in 1½ bis 2 m Höhe auf einem Regal aus dunklem Holz des nach Norden gerichteten Laboratoriums stehen, wo sie auch gegen diffuses Licht einigermaßen geschützt waren. Der Raum war mit Niederdruckdampfheizung erwärmt. Die regelmäßig kontrollierte Temperatur und Luftfeuchtigkeit während der von Dezember 1929 bis Februar 1930 durchgeführten Versuche ergab ziemlich konstante Werte von 22° und 55—60% rel. Feuchtigkeit.

Es sei dahingestellt, ob sich nicht bei höherer Feuchtigkeit und niedriger Temperatur etwa noch höhere Werte für die Lebensdauer der getrockneten Bazillen ergeben hätten.

4. Prüfung auf überlebende Keime.

Die Prüfung auf überlebende Bakterien erfolgte auf folgende Weise: Vom infizierten Sand wurde eine kleine Menge mit einem sterilen Spatel auf Endplatten aufgetragen. Die beschickten Holz- und Stoffproben wurden mit steriler Pinzette den Schalen entnommen und auf die

Oberfläche von Endo- bzw. Serumplatten aufgedrückt und liegen gelassen. Die Metallplättchen wurden über die Oberfläche der Nährbodenplatten mehrmals kreuz und quer herübergewischt und dann an einer Stelle liegen gelassen; dies geschah, um etwaige bakterizide Wirkungen der Metalle bzw. ihrer Derivate auf der Nährbodenoberfläche festzustellen und auszuschließen. In der Tat wurden auch derartige bakterizide Wirkungen, die man wohl z. T. mit der Bildung von Metallsalzen erklären kann, beobachtet. Dort wo die Metalle auf dem Nährboden lagen, konnte man nämlich folgende Erscheinungen feststellen: Rings um die Plättchen bildete sich auf dem Nährboden eine etwa 3 mm breite Zone, welche eine Verfärbung und geringes Bakterienwachstum zeigte. Kupfer und Messing — letzteres wohl durch seine Kupferkomponente — verursachten eine rote Verfärbung des Endoagars, welche einen grünlich-metallischen Glanz aufwies. Eisen verursachte eine dunkle und Zink eine milchige weiße Verfärbung. Nur dort, wo das Zinnplättchen lag, konnte eine Verfärbung nicht beobachtet werden; dagegen zeigte sich auch dort ein der Größe der Verfärbungszone bei den anderen Metallen entsprechender bakterienarmer Rand.

Als gegen Ende jeder Versuchsreihe das Wachstum auf Endoagarplatten aufhörte, wurde je ein infiziertes Objekt in Bouillon gelegt, um etwaige in Ritzen oder Poren der Gegenstände noch überlebende Keime zu ermitteln. Die mit den infizierten Objekten beschickten Nährbodenplatten wurden zur Prüfung der Sterilität 1 bis 2 Tage, Bouillonröhrchen 10 Tage bebrütet. Der Sterilität auf Nährbodenplatten entsprach auch jedesmal Sterilität der Bouillonröhrchen.

Die gewachsenen Keime wurden ausnahmslos kontrolliert. Bei Diphtherie erfolgte die Kontrolle durch mikroskopischen Nachweis der Diphtheriebazillen (Färbung mit Löfflerschem Methylenblau) und ergab stets Bakterien von typischem Aussehen der Diphtheriebazillen.

Bei den Typhusbazillen erfolgte eine sofortige Kontrolle durch Probeagglutination aller gewachsenen Kulturen mit Typhusimunerum 1 : 100 auf dem Objektträger. Es zeigte sich makroskopisch die typische Haufenbildung innerhalb weniger Minuten. Ferner wurde regelmäßig von je einer Metall-, Stoff-, Holz- und Sandprobenkultur auf Schrägagar abgeimpft und nach 24 stündigem Aufenthalt im Brutraum die Agglutinationsprobe mit Typhusimunerum bis zur Titergrenze sowie die bunte Reihe angelegt.

Zusammenfassend sei berichtet, daß stets (auch in den Speichelproben) vollkommen typische Reinkulturen wuchsen.

Das Ergebnis meiner Untersuchungen wird in nebenstehender Tabelle zusammenfassend dargestellt.

Diskussion.

Die Absterbebeschwindigkeit von Typhusbazillen in eingetrocknetem, verspritzten Material ist für die Möglichkeit der „Schmutz- und Schmierinfektion“ von großem praktischem und epidemiologischem Interesse. Die Wichtigkeit dieser Frage mag es daher rechtfertigen, daß die Versuche erneut und in systematischer Weise mit verschiedenen Stoffen ausgeführt wurden. Durch die angewandte Technik wurde versucht, unter Einhaltung möglichst günstiger Lebensbedingungen für die Keime zu arbeiten (Ausschaltung der Konkurrenz Bakterien, Vermeidung hypertonischer Salzlösungen, Suspendierung der Keime in einhüllende organische Stoffe). Es sei daher gleich vorweg bemerkt, daß die Lebensfähigkeit der im Speichel und in Milch eingehüllten Bakterien etwa die gleiche war, wie diejenige der unmittelbar aufgetragenen „nackten“ Bakterien. In meinen Versuchen, die bei einer mittleren Temperatur von 22° und einer mittleren relativen Feuchtigkeit von 55—60% bei schwachem diffusen Tageslicht eines nach Norden gelegenen Zimmers ausgeführt wurden, blieben die Typhusbazillen im günstigsten Falle 25 Tage am Leben. Die geringste Lebensdauer wurde auf Metallen beobachtet (Kupfer 18, Zink 18, Zinn 21, Messing 20 und Eisen 24 Tage). Dann folgte Holz mit 21 Tagen, Baumwolle mit 24 Tagen, Leinen mit 25, Sand mit 25 Tagen und Wolle mit 25 Tagen. Ein Rückgang der Keimzahl gegenüber der zu Beginn der Versuchsreihe beobachteten war in der Regel etwa 1 Woche vor dem vollständigen Absterben zu beobachten. In den letzten 2 bis 4 Tagen entwickelten sich stets nur ganz vereinzelte Kolonien.

Der Erwartung gemäß hat sich gezeigt, daß das auf porösen Objekten eingetrocknete infektiöse Material am längsten lebensfähig blieb. Wesentlich kürzer lebten die Bakterien auf Holz, am kürzesten auf Metallen. Hier zeigte sich eine ausgesprochene Keimschädigung durch Kupfer, Messing und Zink, während Eisen und Zinn eine zwar deutliche, aber bei weitem nicht so kräftige bakterizide Wirkung hervorriefen.

Als Kontrolle dafür, daß die angewendeten Versuchsbedingungen für Überleben der angetrockneten Keime mög-

Tabelle I.
Mindestlebensdauer (in Tagen) von Diphtheriebazillen im trockenen Zustande.

Eisen	Kupfer	Messing	Zink	Zinn	Holz	Wolle	Baumwolle	Leinen
N. M.	S. N. M.	S. N. M.	S. N. M.	S. N. M.	S. N. M.	S. N. M.	S. N. M.	S. N. M.
50 50	50 50 50 50	50 50 50 50	50 50 50 50	50 50 50 50	50 50 50 50	50 50 50 50	50 50 50 50	50 50 50 50

Anmerkung: Diese Versuchsreihen mußten, da die infizierten Objekte ausgingen, nach 50 Tagen eingestellt werden.

Tabelle II.
Äußerste Lebensdauer (in Tagen) von Typhusbazillen im trockenen Zustande.

Stamm	Eisen	Kupfer	Messing	Zink	Zinn	Holz	Wolle	Baumwolle	Leinen	Sand
	N. M. S.	N. M. S.	N. M. S.	N. M. S.	N. M. S.	N. M. S.	N. M. S.	N. M. S.	N. M. S.	M.
Ty. I	24 24 19	18 18 18	19 19 14	18 14 14	21 20 19	21 19 19	25 24 25	24 21 25	24 24	25
Ty. II	21 21 20	9 9 9	16 20 17	9 9 9	21 20 20	21 20 21	22 21 22	21 20 22	21 22	22

N bedeutet „nachte“ Bakterien aus der Reinkultur.

M „ „ in Milch aufgeschwemmt.

S „ „ in Speichel „

lichst günstig waren, wurde eine Parallelreihe mit Diphtheriebazillen angesetzt. Sie ergab das bekannte Resultat, daß diese Bakterien nach dem Antrocknen mindestens 50 Tage lebensfähig bleiben. Die Kontrollversuche konnten hier nach 50 Tagen nicht mehr zu Ende geführt werden, da die Anzahl der infizierten Objekte nicht ausreichte, um die maximale Lebensdauer der Diphtheriebazillen im getrockneten Zustande festzustellen. Die mit „nackten“ sowie mit in Milch und Speichel eingehüllten Diphtheriebazillen beschickten Objekte verursachten selbst nach 50 Tagen noch Wachstum auf Löfflerschen Serumplatten.

Die durch meine Versuche erneut festgestellte Tatsache, daß Typhusbazillen nach dem Eintrocknen über 3 Wochen und Diphtheriebazillen über 7 Wochen lebensfähig bleiben können, ergibt den dringenden Hinweis auf die Notwendigkeit der Schlußdesinfektion. Sie beweist, daß es nicht mit einfacher Reinigung des Krankenzimmers getan ist, sondern daß in jedem Fall sorgfältige und sachgemäße Desinfektion sämtlicher der Infektion ausgesetzter Gegenstände durch geschultes Personal eine unbedingte Notwendigkeit ist. Hieran ändert auch die noch so sorgfältig durchgeführte laufende Desinfektion am Krankenbette nichts; denn es ist selbstverständlich, daß diese niemals jede möglicherweise infizierte Stelle erfassen kann.

Zusammenfassung.

- I. Die in dünnen Schichten an Objekte verschiedener Art angetrockneten Bazillen zeigten bei Aufbewahrung in zerstreutem Tageslicht bei Zimmertemperatur und relativer Feuchtigkeit von etwa 55—60% erhebliche Resistenz gegen Austrocknung. Diphtheriebazillen waren über 7 Wochen, Typhusbazillen bis zu 25 Tagen lebensfähig.
- II. Die Haltbarkeit der Typhusbazillen wechselte je nach dem Material, auf dessen Oberfläche sie angetrocknet waren. Auf Metallen hielten sie sich nicht so lange wie auf porösen Materialien (Gewebe, Holz) oder Sand. Auch auf den einzelnen Metallen war die Haltbarkeit nicht gleich. Auf Kupfer, Zink und Messing hielten sie sich kürzere Zeit als auf Eisen und Zinn.
- III. „Nackte“ Bakterien zeigten im getrockneten Zustande etwa die gleiche Lebensfähigkeit wie in organische Substanzen (Milch, Speichel) eingehüllte.

- IV. Aus diesen Ergebnissen ist zu folgern, daß Infektionsmöglichkeit durch verspritzte und an verschiedene Gegenstände angetrocknete Exkrete von Diphtherie- und Typhuskranken oder Dauerausscheidern vorhanden ist, und daß sie selbst nach wochen-, ausnahmsweise wohl auch monatelanger Aufbewahrung fortbesteht.
- V. Nach wie vor ist deshalb auf rigorose Durchführung der laufenden, aber nicht minder der Schlußdesinfektion zu dringen.

Zum Schlusse möchte ich die angenehme Pflicht erfüllen, Herrn Prof. Carl Prausnitz für die Überlassung des Themas sowie für die mir erwiesene freundliche Hilfe bei der Abfassung dieser Arbeit, herzlichst zu danken.

Literatur.

- Kolle-Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. 2. Aufl. 1913. Bd. 3: Abdominaltyphus von K. H. Kutscher. — Bd. 5: Diphtherie von H. A. Gins.
- Kolle-Kräus-Uhlenhuth, Handbuch der pathog. Mikroorganismen. Bd. 5 (1): Diphtherie von G. A. Gins. 3. Aufl.
- Heim, Lehrbuch der Bakteriologie. 5. Aufl.
- Kolle-Hetsch, Bakteriologie. 7. Aufl. Bd. 1.
- A System of Bacteriology in Relation to Medicine. Herausgegeben vom „Medical Research Council“. Bd. 4 1929.
Die dieses Thema berührende Literatur bis zum Jahre 1898 ist angegeben bei M. Ficker, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 29 1898 p. 1.
- Ficker, M., Zeitschrift für Hygiene Bd. 29 1898 p. 1.
— Zeitschrift für Hygiene Bd. 59 1908 p. 367.
- Robertson, J., British med. Journal 1898 vol. 1 p. 69.
Referiert in Baumgarten, Jahresber. 1898 p. 330.
- Martin, S., Report of med. Officer of the local. Gov. Board. 1897—98 p. 308. Referiert in Baumgarten, Jahresber. 1898 p. 330.
- Weichhardt, Verbreitung der Diphtherie durch leblose Objekte. Diss. Berlin 1900.
- Rullmann, W., Zentralbl. für Bakteriologie Abt. I Bd. 30 1901 p. 321.
- Pfuhl, E., Zeitschr. für Hygiene Bd. 40 1902 p. 555.
- Heim, L., Zeitschr. für Hygiene Bd. 50 1905 p. 123.
- Levy und Kayser, Zentralbl. für Bakteriologie Abt. I Orig.-Bd. 33 1903 p. 489.
- Sachs-Mücke, Klin. Jahrb. Bd. 18 p. 351. Referiert in Baumgarten, Jahresber. 1908 p. 273.
- Semple und Greig, Scientific Memoirs by Officers of med. and sanit. Dep. of the Gov. of India 1908 Nr. 32 p. 40.

- Morgan und Harvey, R.A.M.C.Jl. 1908 Bd. 12 p. 587.
Ref. in A System of Bacteriology Bd. 4 1929 p. 43, 44.
- Martini, Zeitschr. für Hygiene 1910 Bd. 65 p. 185.
- Calvagno und Calderini, Zeitschr. für Hygiene 1910
Bd. 65 p. 185.
- Thurn, O., Zentralbl. für Bakteriologie Abt. I 1914 Orig.-
Bd. 74 p. 81.
- Dold und Chen Yü Hsiang, Archiv für Hygiene
Bd. 89 1920 p. 63.
- Jochimsen, Zeitschr. für Hygiene 1929 Bd. 109 p. 96.
- Lomry, Comptes rendus de la soc. de biol. 1929 Bd. 101
p. 161, 480—82.
-

Lebenslauf.

Ich, Ernst Isenberg, Sohn des Kaufmanns Heinrich Isenberg aus Bielitz, wurde am 2. August 1906 in Biala geboren. Ich bin Jude und polnischer Staatsbürger. Meine humanistische Bildung genoß ich auf dem Staatsgymnasium mit deutscher Unterrichtssprache in Bielitz, welches ich im Juni 1925 mit dem Zeugnis der Reife verließ. Am 30. April 1926 bezog ich die Universität Breslau, um Zahnheilkunde zu studieren. Das zahnärztliche Vorexamen legte ich am 3. August 1927 ab. Ebenso wie die vorklinischen Semester absolvierte ich auch die klinischen Semester in Breslau. Am 13. November 1929 legte ich die zahnärztliche Prüfung in Breslau ab und studiere auch im laufenden Semester hier. Während meiner Studienzeit besuchte ich die Vorlesungen, Kurse und Kliniken folgender Herren Professoren und Dozenten:

Arndt, Biltz, von Eggeling, Euler, Fuchs, Greve, Hahn, Hesse, Hübner, Jeßner, Klestadt, Kuznitsky, Mathias, Meyer, Prausnitz, Schäfer, Scheller, Severin.

Allen diesen Herren, meinen hochverehrten Lehrern, spreche ich an dieser Stelle meinen ehrerbietigsten Dank aus.
